

тяжелом течении ГИ активация эндотелия становится избыточной системной реакцией.

Таким образом, изменение продуктов деградации NO, отражающее его синтез в эндотелии кровеносных сосудов человека может являться частью патогенетического механизма, определяющего динамику мозгового инсульта. Совершенствование методов контроля и коррекции этих изменений позволит еще в большей степени оптимизировать диагностику, прогнозирование и тактику лечения больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лабораторное дело 1988, N11 стр. 41 - 43.
2. Виленский Б.С. Инсульт. – СПб: Медицинское информационное агентство, 1995. – 228 с.
3. Самотокин Б.А., Хилько В.А. Аневризмы и артериовенозные соустья головного мозга. – Л., Медицина, 1973.

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНА NO-СИНТЕТАЗЫ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Минушкина Л.О., Затейшиков Д.А., Кудряшова О.Ю., Затейщикова А.А.,
Чистяков Д.А.*, Носиков В.В.*, Цимбалова Т.Е., Баринев В.В., Сидоренко Б.А.

*Кафедра кардиологии и общей терапии УНЦ МЦ УД Президента РФ
Государственный научный центр "ГосНИИ генетика", Москва

В течение последних лет появились сведения о возможной "причастности" некоторых генов-кандидатов к наследственной предрасположенности в отношении основных сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Показано [2], что дисфункция эндотелия может носить наследственный характер. В связи с этим, целью настоящего исследования является изучение взаимосвязи полиморфизма гена NO-синтетазы с проявлениями гемостазиологической и сосудодвигательной дисфункции эндотелия.

Материалы и методы исследований

Обследовано 112 больных с ишемической болезнью сердца больных: 54 мужчины и 58 женщин, госпитализированных в связи с развитием нестабильной стенокардии. Средний возраст больных составил $64,3 \pm 0,98$ года, 108 больных страдали артериальной гипертонией, 45 были курильщиками. Крупноочаговый инфаркт миокарда в анамнезе имел 57 больных. Гиперхолестеринемией (уровень общего холестерина сыворотки крови выше $5,2$ ммоль/л) страдали 77 пациентов, уровень общего холестерина в среднем по группе составил $6,2 \pm 0,14$ ммоль/л. Больные нестабильной стенокардией обследовались сразу после стабилизации, на 3-7 день после отмены гепарина. К моменту обследования больные не получали антикоагулянтной и антиагрегантной терапии за исключением аспирина, который назначался всем больным, не имеющим противопоказаний. 86 больных имели избыточную массу тела (индекс Кетле больше 25), индекс Кетле в среднем по группе составил $27,5 \pm 0,35$ кг/м². 23 больных из обследованной группы страдали сахарным диабетом 2 типа.

Оценка сосудодвигательной функции эндотелия проводилась с помощью ультразвукового аппарата "ACUSON-128" линейным датчиком 5,5-7,5 МГц по методике описанной Celermajer D.S и соавт (1992) [2]. Проводилось измерение диаметра левой плечевой артерии и оценивалась степень вазодилатации в ответ на усиление кровотока и на нитроглицерин.

Для оценки гемостазиологической функции эндотелия взятие крови исходно и на фоне венозной окклюзии [3] проводили утром между 8 и 11 часами после 12-ти часового голодания.

В плазме крови измеряли ингибитор тканевого активатора плазминогена, протеин С, фактор Виллебранда. Измерение проводили на автоматическом анализаторе Behring Coagulation Timer. В связи с развивающейся во время веноокклюзивного теста гемоконцентрацией, при оценке факторов гемостаза после венозной окклюзии вводили поправочный коэффициент, равный отношению белка крови до к уровню белка после венозной окклюзии. Рассчитывали динамику изученных факторов гемостаза во время теста.

Для определения аллелей гена NO-синтазы (полиморфизм tandemных повторов с изменяющимся числом копий по интрону 4 и полиморфизм Glu298Asp по экзону 7) проводилось выделение геномной ДНК из венозной крови обследуемых методом фенол-хлороформной экстракции. Амплификацию полиморфного участка гена проводили на амплификаторе PNC-2 ("Technique", Великобритания). Анализ продуктов ПЦР проводили электрофоретическим разделением в 2%-ном агарозном геле с последующей

окраской в растворе бромистого этидия (0.01%) и визуализацией фрагментов ДНК под УФ [4].

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью стандартного статистического пакета программ SPSS 8.02. Для протяженных переменных рассчитывали средние величины, их стандартные отклонения и ошибки. При сравнении протяженных величин для оценки достоверности их различия использовали тест Mann-Whitney. Дискретные величины сравнивали методом χ^2 . Для всех видов анализа если не оговаривалось другое, статистически значимыми считали значения $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Гемостазиологическая функция эндотелия была изучена у 93 больных. Распределение генотипов гена NO-синтазы (полиморфизм Glu298Asp) в обследованной группе оказалось следующим: Glu/Glu – 54 пациента, Glu/Asp – 36 больных и Asp/Asp – 3 больных. Достоверных различий в параметрах гемостаза у больных с различными генотипами NOS3 (экзон 7) не обнаружено. При разделении пациентов на две группы по изменению протеина С на венозную окклюзию - тех, у кого протеин С потреблялся при венозной окклюзии и у кого не потреблялся, распределение генотипов среди них оказалось достоверно различным ($\chi^2 = 6,83$; $p = 0,033$), при этом среди пациентов с достоверным потреблением протеина С оказалось достоверно чаще встречается генотип Glu/Glu. При объединении больных, содержащих аллель Asp в одну группу, степень неравномерности нарастает ($\chi^2 = 6,80$; $p = 0,009$). Распределение генотипов гена NO-синтазы по интрону 4 в обследованной группе оказалось следующим: bb - 39 ab- 52 aa – 2. Поскольку пациентов, гомозиготных по аллелю а оказалось немного, они были объединены с гетерозиготными больными. Достоверно отличалась динамика протеина С при венозной окклюзии у больных гомозиготных по b аллелю гена NO-синтазы (полиморфизм по интрону 4) и больных, носителей а аллеля этого гена ($3,3 \pm 2,23\%$ и $-1,5 \pm 1,43\%$ соотв., $p = 0,028$).

Сосудодвигательная функция эндотелия была изучена у 112 больных. Сопоставление показателей, характеризующих эндотелиальную регуляцию сосудистого тонуса, у больных с генотипом Glu/Glu и у больных, имеющих аллель Asp гена NO-синтазы (экзон 7) не выявило достоверных различий. В то же время, нами обнаружены различия в реакция на нитроглицерин у пациентов с аллелем Asp была несколько меньше, чем у больных с генотипом Glu/Glu ($0,26 \pm 0,029$ см и $0,32 \pm 0,025$ см соотв., $p = 0,054$). Достоверного уровня эти различия достигли у женщин ($0,24 \pm 0,036$ см и $0,31 \pm 0,030$ см соотв.; $p = 0,05$). Взаимосвязи эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации с полиморфизмом NO-синтазы по интрону 4 выявлено не было.

Таким образом, аллель Asp гена NO-синтазы (полиморфизм по экзону 7) и аллель b (полиморфизм по интрону 4) оказались связаны с изменениями в системе гемостаза, которые можно характеризовать как протромбогенные. Аллель Asp гена NO-синтазы оказался также связанным со сниженной реакцией на экзогенные нитраты.

ЛИТЕРАТУРА

1. R.Pratt, V.Dzau. Genomics and Hypertension. Concepts, Potential, and Opportunitis.// Hypertension, 1999; 33 [part II]: 238-247
2. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. // Lancet 1992; 340: 1111-1115.
3. Д.А.Затейщиков, А.Б.Добровольский, О.В. Аверков, А.Н.Сторожилова, Е.П.Панченко, Дж.Боннет, Н.А. Грацианский. Изучение антикоагулянтных свойств эндотелия с помощью стандартного веноокклюзивного теста.//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1992, N12, С.605-608.
4. X.L.Wang, M.C.Mahaney, A.Siew, J.Wang et al. Genetic Contribution of the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene to plasma Nitric Oxide Levels.// Arterioscler. Thromb Vasc Biol. 1997; 17: 3147-3153.

ВЫЯВЛЕНИЕ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПУПОВИНЫ, КАК СКРИНИНГОВЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ДИЗАДАПТАЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА НОВОРОЖДЕННЫХ

Пальцева А.И., Максимович Н.Е., Вильчук К.У., Максимович Н.А.

Государственный медицинский университет, Гродно

Введение

Установлено, что эндотелиальные клетки способны синтезировать оксид азота (NO) уже с первых дней беременности (Halbower A.C., et al., 1994). В ряде работ показано, что хроническая внутриутробная гипоксия и внутриутробная гипертензия изменяют реактивность и структуру сосудов, что приводит к формированию постнатальной дизадаптации новорожденных (Abman S.H., Kinsekka J.P., 1989 и др.).

Целью нашей работы явилась диагностика in vitro NO-зависимой дисфункции эндотелия (NO-ЗДЭ) сосудов пуповины новорожденных,